

## THESIS / THÈSE

### DOCTEUR EN SCIENCES

#### **Etude du rôle de l'autophagie et de la réponse UPR dans la résistance des cellules cancéreuses contre l'apoptose induite par le paclitaxel**

Notte, Annick

*Award date:*  
2013

*Awarding institution:*  
Université de Namur

[Link to publication](#)

#### **General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

#### **Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



Université de Namur,  
Faculté des sciences – Département de Biologie  
Unité de Recherche en Biologie Cellulaire

**Etude du rôle de l'autophagie et de la réponse UPR dans la résistance des cellules cancéreuses contre l'apoptose induite par le paclitaxel**

Dissertation présentée par Annick Notte, en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences

Composition du jury :

**Professeur C. Michiels (promoteur)**

Unité de Recherche en Biologie Cellulaire (URBC)  
NARILIS, UNamur, Namur

**Docteur J. Verrax**

Louvain Drug Research Institute (LDRI)  
UCL, Woluwé-Saint-Lambert

**Docteur N. Mazure**

Institute for Research on Cancer and Ageing of Nice (IRCAN)  
Université de Nice-Sophia-Antipolis

**Professeur T. Arnould (co-promoteur)**

Unité de Recherche en Biologie Cellulaire (URBC)  
NARILIS, UNamur, Namur

**Docteur J-P. Gillet**

Unité de Recherche en Physiologie Moléculaire (URPhyM)  
NARILIS, UNamur, Namur

**Professeur M. Raes (présidente du jury)**

Unité de Recherche en Biologie Cellulaire (URBC)  
NARILIS, UNamur, Namur

Le 2 décembre 2013



# Remerciements

Voici le moment de remercier toutes les personnes qui m'ont aidée durant mes quatre années de thèse. Ces quelques lignes sont les plus agréables à écrire ☺ et il y a énormément de personnes grâce à qui j'ai pu terminer cette thèse et que je tiens à remercier.

Tout d'abord, je souhaite remercier le FNRS, l'Université de Namur et l'URBC pour leur soutien financier.

Je remercie mon jury de thèse pour le temps consacré à la lecture de mon manuscrit, pour les commentaires constructifs et la discussion que nous avons eue lors de la pré-défense. Toutes vos remarques m'ont permis d'améliorer la qualité de mon manuscrit. Merci à Nathalie Mazure qui s'est déplacée à deux reprises vers le NORD ! pour venir assister à ma thèse.

Je tiens tout particulièrement à remercier le Professeur Carine Michiels qui m'a soutenue, conseillée et encouragée durant ces quatre années de thèse. Merci pour votre disponibilité, pour le temps que vous avez consacré à l'ensemble de mon travail et pour votre soutien dans les moments difficiles.

Merci à mon co-promoteur, le Professeur Thierry Arnould pour son expertise scientifique très pointue et pour ses conseils.

Je tiens également à remercier tous les « seniors » de l'URBC qui veillent au bon fonctionnement du laboratoire et au maintien d'une ambiance agréable entre les membres de l'URBC. Merci particulièrement à Martine Raes et Thierry Arnould qui ont dirigé l'URBC durant ma thèse.

Merci à Christophe Pierreux qui m'a accueillie dans son laboratoire, à l'institut de Duve de l'UCL et qui m'a aidée à faire des constructions de plasmides.

Merci aussi à mon mémorant Thomas Quenon pour son travail sur la mitophagie.

Je remercie toute l'équipe technique et administrative de l'URBC qui joue un rôle très important dans le bon fonctionnement de l'URBC. Merci à Anne pour son expertise administrative, à Antoine pour la bonne organisation du labo et pour ses citations mordantes ☺, à Martine pour ses conseils en bio cell, à Noëlle et Catherine pour les heures passées au confocale, à Guy et Guillaume pour leur aide précieuse et pour les discussions à la laverie, à Edouard pour ses super bons conseils en protéomique, à Maude pour son aide dans les manips et enfin merci à Marc, le Dieu de l'informatique et de la spectro de masse qui oublie de payer ses tournées à la beer hour ☺.

Je remercie aussi tous les membres de l'URBC pour la super ambiance qui règne au labo. J'ai vraiment passé quatre années inoubliables avec de super bons moments grâce à vous. Je remercie particulièrement tous les membres (passés et présents) de l'équipe HIF pour les réunions gâteaux, leur aide pour les dernières manips et pour votre bonne humeur et les bons moments passés ensemble qui ont contribué au bon déroulement de cette thèse. Merci également aux personnes qui ont partagé le même bureau que le mien car il y régnait toujours



une bonne ambiance: Neil, Virgine, Manu, Sylvia, Marie et surtout Sébastien que j'ai du supporter du début à la fin ☺.

Un GRAND MERCI à tous mes amis. Merci pour tous les bons moments passés ensemble et qui resteront gravés dans ma mémoire: les soirées jeux, les soirées foot, les soirées déguisées, la « beer hour », les verres au Bouffon et les restos, les vacances en France, les barbecues, les tartiflettes et autres soirées « bonne bouffe », les discussions dans les bureaux (avec des rires et des pleurs), les petites attentions pour les anniversaires, tous les gâteaux partagés au labo, le peketo couille de singe, les fêtes de Wallonie, les cours de boulangerie, les sorties à Bruxelles, la solidarité entre blondes, les crêpes à la maison des desserts et j'en passe... Je ne vous remercierai jamais assez pour votre soutien, votre aide et pour tous ces bons moments passés ensemble.

Enfin, je remercie toute ma famille qui m'a soutenue et encouragée durant ces quatre années de thèse. Merci à mes parents pour leur aide, à mes frères et ma sœur qui m'ont rendue plus forte. Merci particulièrement à maman et à ma sœur Mélanie car vous m'avez énormément aidée et soutenue tout au long de ma thèse. Il n'existe aucun mot assez fort pour vous remercier !

Je n'oublie pas non plus mon petit chat Moka qui m'a tenu compagnie dans les moments de solitude ☺.

MERCI A TOUS !



## TABLE DES MATIÈRES

RESUME .....	I
ABSTRACT .....	III
ABRÉVIATIONS .....	V
AVANT-PROPOS .....	X
I INTRODUCTION.....	1
I.1 L'apoptose.....	1
I.1.1 Relevance physiologique de l'apoptose.....	1
I.1.2 Caractéristiques morphologiques d'une cellule en apoptose.....	2
I.1.3 Les mécanismes de l'apoptose .....	3
I.1.3.a Activation de l'apoptose par la voie extrinsèque .....	3
I.1.3.a.i La voie Fas .....	4
I.1.3.a.ii La voie du TNF .....	4
I.1.3.a.iii La voie TRAIL.....	5
I.1.3.b Activation de l'apoptose par la voie intrinsèque .....	5
I.1.3.b.i Les protéines de la famille Bcl <sub>2</sub> .....	5
Les protéines anti-apoptotiques .....	6
Les protéines pro-apoptotiques .....	6
Régulation de l'apoptose : interactions protéine-protéine .....	7
L'apoptose induite par des dommages aux microtubules .....	8
L'apoptose induite par des dommages à l'ADN .....	9
L'apoptose induite suite à une absence de signaux de survie .....	9
L'apoptose induite par un stress hypoxique .....	10
I.1.3.b.ii Interaction entre les voies extrinsèques et intrinsèques .....	11
I.1.3.b.iii La perméabilisation mitochondriale.....	11
Les différents types de perméabilisation.....	11
L'apoptosome .....	12
I.1.3.c Les caspases .....	13
I.1.3.c.i Classification .....	13
I.1.3.c.ii Mécanismes d'activation des caspases.....	14
I.1.3.c.iii Substrats des caspases .....	15
I.1.3.c.iv Inhibition des caspases par les IAPs.....	15
I.1.3.d Libération d'autres acteurs mitochondriaux .....	16
I.1.3.e Les calpaïnes.....	17
I.1.4 Rôle de l'apoptose dans la tumorigenèse.....	18
I.1.5 L'apoptose induite par le taxol et les mécanismes de résistance .....	18
I.1.5.a Le taxol .....	18
I.1.5.b Structure des microtubules .....	19
I.1.5.c L'apoptose induite par des dommages aux microtubules .....	20
I.1.5.d Mécanismes de résistance à l'apoptose induite par le taxol .....	21
I.2 L'hypoxie .....	24
I.2.1 Réponse systémique à l'hypoxie.....	24
I.2.2 Réponse cellulaire à l'hypoxie .....	25
I.2.3 Le facteur de transcription HIF-1 .....	25
I.2.3.a Structure de HIF-1 $\alpha$ .....	26
I.2.3.b Structure de ARNT .....	26
I.2.3.c Régulation de l'activité transcriptionnelle de HIF-1 par l'oxygène.....	26





## Table des matières

I.2.3.d	Dégradation de HIF-1 $\alpha$ indépendante de pVHL .....	28
I.2.3.e	Rôle de la mitochondrie et des ROS .....	29
I.2.3.f	Facteurs de croissance et voies des PI3K et MAPK .....	29
I.2.3.g	Acétylations et désacétylations de HIF-1 $\alpha$ .....	30
I.2.3.h	Interactions protéine-protéine .....	31
I.2.4	Adaptation cellulaire à l'hypoxie .....	32
I.2.4.a	Erythropoïèse .....	32
I.2.4.b	Néoangiogenèse et flux sanguin .....	32
I.2.4.c	Glucose et métabolisme énergétique .....	33
I.2.5	Cancer et hypoxie .....	33
I.2.5.a	Adaptations métaboliques et régulation du pH .....	34
I.2.5.b	Néoangiogenèse .....	35
I.2.5.c	Métastases .....	36
I.2.6	L'hypoxie et l'apoptose .....	36
I.2.6.a	Influence directe du microenvironnement tumoral .....	37
I.2.6.b	HIF-1 anti-apoptotique .....	38
I.2.6.c	HIF-1 pro-apoptotique .....	38
I.2.7	Implication d'autres facteurs de transcription .....	39
I.2.7.a	NF $\kappa$ B .....	39
I.2.7.b	AP-1 .....	39
I.2.7.c	ATF4 .....	40
I.3	L'autophagie .....	41
I.3.1	Rôles physiologiques de l'autophagie .....	42
I.3.2	Formation des autophagosomes .....	43
I.3.3	Régulation de l'autophagie: le complexe mTOR .....	46
I.3.4	Liens entre l'autophagie et l'apoptose .....	47
I.3.4.a	Interaction entre Beclin-1 et Bcl <sub>2</sub> /xl .....	48
I.3.4.b	Clivage d'Atg5 et de Beclin-1 .....	49
I.3.5	Rôle dans les cancers, la chimiothérapie et l'hypoxie .....	49
I.4	L'UPR (Unfolded Protein Response) .....	59
I.4.1	Mécanismes moléculaires .....	59
I.4.1.a	Activation des trois senseurs du stress au RE .....	60
I.4.1.b	PERK .....	61
I.4.1.c	IRE1 $\alpha$ .....	62
I.4.1.d	ATF6 .....	63
I.4.2	Liens avec l'autophagie .....	63
I.4.2.a	Régulation de l'autophagie par les voies PERK, IRE1 $\alpha$ et ATF6 .....	64
I.4.3	Liens avec l'apoptose .....	66
I.4.3.a	Régulation de l'apoptose par les protéines de la famille Bcl <sub>2</sub> .....	66
I.4.3.b	Activation des caspases initiateurs au sein du RE .....	67
I.4.4	Régulation de l'apoptose et de l'autophagie via le calcium .....	68
I.4.5	Rôle de l'UPR dans les cancers, la chimiothérapie, l'hypoxie .....	71
I.4.5.a	GRP78 .....	71
I.4.5.b	UPR, hypoxie et angiogenèse .....	72
I.4.5.c	Rôle de l'UPR dans la chimiothérapie .....	72
II	OBJECTIFS .....	75
III	RÉSULTATS .....	77
III.1	Article 1: Etude de l'effet de l'hypoxie sur l'apoptose induite par le taxol et du rôle de l'autophagie dans la résistance induite par l'hypoxie .....	77
III.1.1	Objectifs .....	77
III.1.2	Supplementary data .....	92
III.1.3	Conclusion .....	106
III.2	Article 2: Etude du rôle de l'UPR dans la résistance induite par l'hypoxie contre l'apoptose induite par le taxol .....	108



## Table des matières

---

III.2.1	Objectifs.....	108
III.2.2	Conclusion .....	128
IV	DISCUSSION ET PERSPECTIVES.....	130
<b>RÉFÉRENCES .....</b>		<b>139</b>

